

Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. med. E. Zerbst

DIE ABHÄNGIGKEIT DES MEMBRANPOTENTIALS DER GLATTEN
GEFÄSSMUSKULATUR VON DER K^+ -AUSSENKONZENTRATION

Inaugural - Dissertation

ZUR

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Reinhold Jäger
aus
Salzkotten/Krs. Büren

1977

Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. med. E. Zerbst

DIE ABHÄNGIGKEIT DES MEMBRANPOTENTIALS DER GLATTEN GEFÄSS-
MUSKULATUR VON DER K^+ -AUSSSENKONZENTRATION

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Reinhold Jäger

aus

Salzkotten/Krs. Büren

Referent: Prof. Dr. med. G. Siegel

Korreferent: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. U. Hegel



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 22. März 1977

Meiner Mutter,

die meinen Lebensweg mit liebendem Verständnis und sorgender Hingabe begleitet.

Meinem Vater,

der uns durch den deutschen Faschismus als Soldat entrissen wurde und dessen Schicksal schmerzlich ungewiß bleibt.

Meinen Geschwistern

Meinen lieben Thüler Verwandten

Unseren Nachbarn,

insbesondere Herrn Niermann und dem verstorbenen Herrn Hellinge, die mir in ihrem lebendigen Zeugnis und ihrem Handeln den Vater näherbrachten und denen ich viel an Ermutigung und Vertrauen in von mir Begonnenes verdanke.

INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG	7
EINLEITUNG	7
METHODIK	9
PRÄPARATE	9
Operation	9
Feinpräparation	9
Äquilibrieren	9
Meßkammer	9
Aufspannen	10
LÖSUNGEN	10
TEMPERATUR	10
POTENTIALMESSUNGEN	11
Elektronik	11
Elektroden	11
Füllung der Elektroden	11
Tip-Potential	11
Junction-Potential	13
Einstich	13
ERGEBNISSE	14
Spontanaktivität	16
DISKUSSION	17
Das K^+ -Gleichgewichtspotential	19
Das Ruhemembranpotential	20
LITERATUR	23
TABELLEN	30
ABBILDUNGEN	36
LEBENS LAUF	45

ZUSAMMENFASSUNG

1. An der isolierten *A. carotis communis* des Hundes wurde der Einfluß der extracellulären K^+ -Konzentration auf das Ruhemembranpotential untersucht.
2. Methodische Probleme, insbesondere die Abhängigkeit des Tip-Potentials vom Elektrodenwiderstand und die Zuverlässigkeit des Einstichs wurden diskutiert.
3. Das Membranpotential der glatten Gefäßmuskulatur ist relativ unabhängig von der extracellulären K^+ -Konzentration. Es weicht stark vom K^+ -Gleichgewichtspotential ab und nimmt einen flachen Verlauf, wodurch die Bedeutung anderer Ionenspecies als K^+ für die passive Potentialentstehung unterstrichen wird. Membrandepolarisation trat sowohl unter wie über 2,35 mMol/l $[K^+]_0$ auf.
4. Es wurden spontanaktive Potentialfluktuationen in Form langsamer Wellen sowie als "membrane noise" beobachtet, jedoch nur äußerst selten Spitzentpotentiale. Nicht jede Zelle wies Spontanaktivität auf.

EINLEITUNG

Transmembranale Potentiale wurden bis heute an zahlreichen biologischen Strukturen gemessen, um dem Geheimnis ihrer Entstehung und ihrer Bedeutung näher zu kommen. Insbesondere am Nerven (CURTIS und COLE, 1942; HODGKIN und HUXLEY, 1939, 1945; HUXLEY und STAMPFLI, 1951), an der Skelettmuskulatur (LING und GERARD, 1949; NASTUK und HODGKIN, 1950; ADRIAN, 1956; HODGKIN und HOROWICZ, 1959 a) und am Herzen (WOODBURY *et al.*, 1950; DRAPER und WEIDMANN, 1951; BRADY und WOODBURY, 1960) wurden extra- und intracelluläre Ableitungen durchgeführt.

An der glatten Muskulatur wurde dagegen lange Zeit nur mechanisch-funktionell untersucht (BAYLISS, 1902; v. ANREP, 1912/13; WACHOLDER, 1921; BRECHT *et al.*, 1969; WENDE und PEIPER, 1970). Potentiale wurden erstmals 1938 von BOZLER extracellulär abgeleitet. Intracelluläre Messungen gelangen aus me-

thodischen Gründen erst spät (BOLBRING und HOOTON, 1954). Die ersten Registrierungen dieser Art an der Intestinalmuskulatur und am Ureter beim Kalt- und Warmblüter wurden von GREVEN (1953) berichtet. Seit 1954 steht vor allem die *Taenia coli* des Meerschweinchens als Repräsentant der glatten Muskulatur im Mittelpunkt elektrophysiologischer Untersuchungen, nachdem Edith BOLBRING die intracelluläre Ableittechnik weiter ausgebaut anwandte. Die glatte Muskulatur des Magen-Darm-Traktes und des Uterus blieb bis heute häufigstes Forschungsobjekt. Die Gefäßmuskulatur ist dagegen elektrophysiologisch weitgehend unerforscht. Erst in den letzten Jahren gelangen extra- und intracelluläre Ableitungen von diesen Strukturen (FUNAKI, 1958, 1961; RODDIE, 1962; KEATINGE und RICHARDSON, 1963; MEKATA, 1971; HENDRICKX und CASTEELS, 1974).

Die Bedeutung der Gefäßmuskulatur ist im wesentlichen in der Steuerung der Organdurchblutung zu sehen. Die vorliegenden Untersuchungen stehen in Zusammenhang mit der Frage, welche Parameter den kontraktilen Tonus der Gefäßmuskulatur regulieren und damit auf die Organdurchblutung Einfluß nehmen. Substanzen, Zustandsgrößen und morphologische Faktoren, die auf die Gefäßmuskulatur einwirken, sind: Ionen, sowohl anorganische wie organische; humorale Faktoren; der Säuregrad im Extracellulärraum; die Temperatur; der transmurale Druck; die nervale Versorgung. Es handelt sich also um übergeordnete und lokale Einflüsse. Von letzteren soll hier die Wirkung der extracellulären K^+ -Konzentration auf das Ruhemembranpotential untersucht werden.

Damit sind die anfangs erwähnten Fragen Gegenstand dieser Arbeit: Welche Erkenntnisse lassen sich über die Entstehung des Ruhemembranpotentials gewinnen? Ist es im wesentlichen ein K^+ -Diffusionspotential, oder spielen auch andere Ionenspecies als K^+ für die passive Potentialentstehung eine Rolle? Welchen Einfluß üben eventuell elektogene Transportvorgänge auf das Membranpotential aus?

Das Membranpotential wurde mit Hilfe der intracellulären Ableittechnik gemessen, wobei die K^+ -Außenkonzentration in einem weiten Bereich variiert wurde. Die Veränderungen des Potentials werden in Zusammenhang mit der Bestimmung des Extracellulärraums, der extra- und intracellulären Konzentrationen verschiedener Ionenspecies und den Ergebnissen aus der Literatur diskutiert.

METHODIK

1. PRÄPARATE

Als Untersuchungsobjekt diente glatte Gefäßmuskulatur aus der *A. carotis communis* des Hundes *in vitro*.

Operation. Die Versuche wurden an 28 Hunden beiderlei Geschlechts, unterschiedlicher Rasse und verschiedenen Alters mit Gewichten zwischen 5 und 16 kg über das Jahr verteilt durchgeführt. Die Hunde wurden im Operationsaal im Tierstall des Instituts mit einem Bolzenschußapparat in Bewußtlosigkeit versetzt. Dabei wurde so vorgegangen, daß der Bolzen möglichst nur die Schädeldecke, nicht aber die Schädelbasis durchschlug. Es erfolgte Atemstillstand. Die Hunde konnten dann intubiert werden und noch für andere Zwecke Verwendung finden. Ein Teil der Hunde blieb unbeatmet. Es wurden beide Carotisarterien von der Abzweigung der *A. thyreoidea* bis zum Oberrand des Sternums unter möglichst geringer Dehnung der Gefäße und weitgehender Abpräparation des umgebenden Bindegewebes innerhalb von 10-15 Minuten herausoperiert. Der Transport erfolgte in einem Dewar-Gefäß mit erwärmter Krebs-Lösung.

Feinpräparation. Die weitere Entfernung von Bindegewebe erfolgte in Petrischälchen, die durch eine elektrische Kochplatte mit Thermostat auf Temperaturen um 37° C gehalten wurden. Das Bindegewebe wurde strumpffartig schichtweise von der Arterie abgezogen. Dann wurde das Gefäßrohr in longitudinaler Richtung aufgeschnitten.

Äquilibrieren. Die Präparate wurden über 3 Stunden in einer mit 95 (93) % O₂ und 5 (7) % CO₂ durchperlten Krebs-Lösung äquilibriert. Diese Zeit ist notwendig, um nach der Präparation ein stationäres Gleichgewicht der Ionenverteilung wiederherzustellen (SIEGEL *et al.*, 1971; SIEGEL *et al.*, 1974 a).

Meßkammer. Die Meßkammer ist in Abb. 1 dargestellt. Sie faßt 2,5 ml. Die Durchlaufgeschwindigkeit der Spülflüssigkeit lag zwischen 8,6 und 25 ml/min, d.h. die Kammer wurde zwischen 3,4 und 10 mal/min ausgetauscht. MEKATA (1971) durchspülte seine Kammer mit 8 ml/min. Für die untere Grenze der Austauschgeschwindigkeit wurde der Verlauf der Konzentrationsänderung bei Lösungswechsel gemessen (Abb. 2). Danach ist nach 1 ½ Minuten 97 % der Kammerlösung

ersetzt. Bei den höheren Durchlaufgeschwindigkeiten erfolgte der Austausch entsprechend schneller. Die Lösungen wurden mit einem Vierwegehahn umgeschaltet, der nahe der Kammer angebracht war. Die Lösungen wurden in Glasbehältern (5 l) im Wasserbad aufgeheizt und über isolierte Schläuche dem Hahn zugeführt. In den Kreislauf waren Schlauchpumpen (L. Eschweiler & Co., Kiel) eingeschaltet, die für einen kontinuierlichen Umlauf sorgten.

Aufspannen. Zum Ableiten wurden etwa 20 mm lange Stücke von dem Gefäßband abgeschnitten (vgl. RODDIE, 1966). Diese wurden in der Meßkammer ohne Kontrolle der Vordehnung derart aufgespannt, daß sie nicht ganz die Innenwölbung verloren, also beinahe nicht vorgedehnt waren. Diese Methode wurde gewählt, weil die Vorspannung apparativ noch nicht gemessen werden konnte und auf diese Weise große Unterschiede in der Dehnung des Präparates vermieden wurden. So verblieb das Präparat etwa unter den Bedingungen beim Äquilibrieren.

2. LÖSUNGEN

Als Bade- und Spülflüssigkeit wurden isotonische Krebs-Lösungen mit verschiedenen K^+ - und Na^+ -Konzentrationen benutzt. Die normale Krebs-Lösung hatte die Zusammensetzung: NaCl 133,47; KCl 4,69; $CaCl_2$ 2,52; NaH_2PO_4 1,38; $NaHCO_3$ 16,31; $MgCl_2$ 0,11; Glucose 7,77 mMol/l (vgl. BOLBRING, 1953). In den übrigen Lösungen wurde die K^+ -Konzentration in den Stufen 0; 0,47; 1,17; 2,35; 11,73; 23,45; 46,90; 93,80 mMol/l variiert, und zwar bei gegensinniger Änderung der Na^+ -Konzentration, so daß stets $[K^+]_0 + [Na^+]_0 = 155,85$ mMol/l blieb. Die Lösungen wurden mit einem Gasgemisch von 95 % O_2 und 5 % CO_2 durchperlt, wobei sich ein pH-Wert von 7,2 bis 7,4 einstellte. KONOLD *et al.* (1968) fanden in einem pH-Bereich von 7,15 - 7,35 keine Änderung des Gefäßtonus. Weiterhin wurde darauf geachtet, daß Ca^{++} -Ionen nicht durch Mikropräzipitation ausfallen (vgl. GOODFORD, 1967). Bei Verwendung eines Gasgemisches aus 93 % O_2 und 7 % CO_2 hielt sich der pH-Wert an der Grenze zum Säuren, wobei Calcium stets ionisiert blieb.

3. TEMPERATUR

Die Experimente wurden bei Badtemperaturen von 35-37° C ausgeführt.

4. POTENTIALMESSUNGEN

Elektronik. Die von der Elektrode gemessene Spannung wurde über einen Kathodenfolger auf einen Differenzverstärker (Typ D 6650, Firma H. Ehrler, Homburg) gegeben.

10-fach verstärkt steuerte das Signal zwei Oszillographen. Ein Großbildoszilloskop (Typ SGM 43 BN 901 S/N 293, Firma Knott, München) diente der Sichtkontrolle, ein Doppelstrahl-Oszillograph (Tektronix, Typ 565) der filmischen Ablichtung der beobachteten Potentialbewegungen. Als Kamera diente eine Grass Model C4N Kymograph Kamera, als Impulsgeber für die Zeitmarke und Protokollsignale ein Grass Stimulator S 88.

Elektroden. Zur Herstellung der Elektroden wurde Pyrex-Glas verwendet (Pyrex Brand K 2916, Corning Glass; Innendurchmesser 1,8 mm, Außendurchmesser 3 mm). Als Zuggerät diente ein T. Chowdhury Pipette Puller (Made by ISEW, Calcutta, India).

Füllung der Elektroden. Nach dem Ziehen wurden die Elektroden mit absolutem Alkohol bei Zimmertemperatur unter Vakuum gefüllt (5 min - vgl. KOCHLER, 1964; Pumpe: Leybold Heraeus Typ D 6), anschließend zweimal 24 h in Aqua bidest. und danach 24 h in 3 Mol/l KCl ausgetauscht. Bei diesem Verfahren fanden wir Elektroden von 30-100 M Ω , entsprechend einem Durchmesser von < 0,5 μ m (KERN, 1966),

Tip-Potential. WOODBURY und McINTYRE (1954) benutzten Mikroelektroden mit einem Widerstand von 50-300 M Ω , ohne auf das Problem des Tip-Potentials (TP) einzugehen. ADRIAN (1956) hat sich sehr eingehend mit diesem Problem auseinandergesetzt. Er sonderte alle Elektroden aus, die ein TP von mehr als -5 mV und einen Widerstand von weniger als 5 M Ω besaßen. Dadurch mußte er etwa 50 % der Elektroden verwerfen. KOCHLER (1964), AGIN (1969) und LAVALLEE und SZABO (1969) beschrieben eine signifikante Erhöhung des TP bei höherem Elektrodenwiderstand sowie in hyperkalischer Lösung. KOCHLER (1964) fand für je 10 mV TP eine Fehlmessung des Ruhemembranpotentials in Richtung Depolarisation von im Mittel 2,8 mV (Korrekturwert: $k_1 = TP_{Na} - TP_K = 0,21 \cdot TP_{Na}$; vgl. Abb. 3). KERN (1966) gab ähnliche Werte an ($k_1 = 0,18 \cdot TP_{Na}$). SIEGEL (1968) fand eine prozentuale Veränderung des TP in Ringer-Lösungen verschiedener K⁺-Konzentrationen von -2,6 bis -18 % gegenüber 0,1 Mol/l KCl-Lösung.

Er korrigierte alle gemessenen Werte unter der Annahme eines mittleren TP von -20 mV.

Das TP einer Elektrode hängt von der Testlösung ab. Als Testlösung in diesem Sinne ist auch das Zellinnere aufzufassen, in das die Elektrode eingestochen wird. Der Einstich ist also -außer der Oberlagerung des Tip-Potentials und des Membranpotentials - gleich dem Übergang der Elektrode aus einer Testlösung in eine andere. Dabei kann sich das TP um einen bestimmten Betrag ändern. Um diese Änderung weicht der gemessene Wert des Membranpotentials vom wahren Wert des Membranpotentials ab (KERN, 1966).

In Abb. 3 sind für einen einfachen Einstich diese einzelnen Spannungen angegeben. Als Badlösung für das Präparat dient Krebs-Lösung der üblichen Zusammensetzung. In erster Näherung kann man das Zellinnere einer 0,15 M KCl-Lösung, die Badlösung einer 0,15 M NaCl-Lösung gleichsetzen. Als Bezugspunkt für alle Spannungen dient der Nullpunkt des Verstärkers. Die Vorzeichen sind so gewählt, daß die an sich negativen Spannungen Membranpotential und Tip-Potential positiv gerechnet werden. Vor dem Einstich wird TP_{Na} der Elektrode in Krebs-Lösung registriert, nach dem Einstich die Spannung $TP_{Na} + MP'$. Gleichzeitig bedeutet der Einstich für die Elektrode einen Übergang von Testlösung NaCl 0,15 M auf KCl 0,15 M. Deshalb geht das TP der Elektrode von TP_{Na} in TP_K über. Das Membranpotential wird auf das TP der Elektrode bezogen. Der gemessene Wert MP' ist also um die Korrektur $k_1 = TP_{Na} - TP_K$ zu klein. Nach Messungen von TP als Funktion der Konzentration ist $TP_{Na}/TP_K = 1,221$ und damit $k_1 = 0,18 \cdot TP_{Na}$ (KERN, 1966). Weiterhin ergaben eigene Beobachtungen ebenfalls eine Korrelation zwischen TP und Elektrodenwiderstand (Abb. 4). Sehr ähnliche Korrelationen wurden von mehreren Autoren in der Monographie von LAVALLEE, SCHANNE und HEBERT (1969) beschrieben. Bei unseren Messungen fanden wir Tip-Potentiale zwischen -20 und -80 mV. Aus einem repräsentativen Kollektiv von 54 Elektroden ergab sich ein mittleres TP von -33,4 mV. Nach KOCHLER (1964) würde dies eine Korrektur des Membranpotentials in Normallösung von $3,34 \cdot 2,8 \text{ mV} = 9,4 \text{ mV}$ bedeuten, d.h. die aufgenommene Potentialkurve (vgl. Abb. 10) würde um 9,4 mV negativer verlaufen. Dem steht jedoch entgegen, daß wir nicht alle verwendeten Elektroden in die Berechnung des mittleren TP einbezogen und des weiteren, daß die Messung gegenüber einer 0,15 Mol/l KCl-Lösung die intracellulären Verhältnisse nur unzureichend si-

muliert (Bindung von Ionen intracellulär, vgl. SCHOFFENIELS *et al.*, 1969; LEV, 1964). Wir leiteten deshalb von in der Literatur bereits beschriebenen Strukturen ab und fanden ähnliche Ruhepotentiale (ADRIAN, 1956: Skelettmuskulatur vom Frosch: In $5,4 \text{ mMol/l } [K^+]_0$ $V = -70 \text{ mV}$. Eigene Messungen an derselben Struktur: $V = -66,9 \text{ mV}$; $SES = 6,9$; $SEM = 1,8$; $n = 15$). Daher rechneten wir den nach obiger Überlegung ermittelten Korrekturwert in die angegebene Kurve nicht ein.

Junction-Potential. Bei stehendem intracellulärem Einstich ändert sich bei Lösungswechsel das Potential gegenüber der im Bad befindlichen Referenzelektrode (KERN, 1966). In Abb. 5 sind die Potentiale zwischen normaler Krebslösung und den Testlösungen mit variiertem K^+ -Konzentration dargestellt. Die gemessenen Ruhemembranpotentiale wurden um das jeweilige Junction-Potential korrigiert (Tab. 4, Spalte 2).

Einstich. Eine glatte Muskelzelle von Gefäßen des Hundes hat im Mittel einen Durchmesser von $2-5 \mu\text{m}$ und eine Länge von $30-110 \mu\text{m}$ (BURNSTOCK, 1970). Die Mikroelektroden müssen einen Spitzendurchmesser besitzen, der wesentlich kleiner ist als $2 \mu\text{m}$, wenn die Zellen beim Penetrieren nicht geschädigt werden sollen. Daraus ergibt sich, daß der Einstich und seine Kontrolle mit großen Schwierigkeiten verbunden ist (BOLBRING und HOOTON, 1954; WOODBURY und McINTYRE, 1954; FUNAKI und BOHR, 1964; RODDIE, 1966). Auch wurde berichtet, daß Mikroelektroden in der Lage sind, einstichähnliche Artefakte zu erzeugen (BORTOFF, 1961). Deshalb wurden die Einstiche nach folgenden Kriterien bewertet: a) Steilheit des Potentialwechsels beim *Ein-* und *Ausstich*; b) *Veränderung* des Ruhemembranpotentials beim Wechsel des extracellulären Ionenmilieus.

Zum Einstich der Mikroelektrode in ein Muskelfaserbündel diente ein Mikromanipulator, der unter mikroskopischer Kontrolle geführt wurde. Als Gegenelektrode wurde eine KCl-Agar-Brücke benutzt, die mit einer Ag/AgCl/Platin-Elektrode verbunden war (Abb. 6). Die Potentiale wurden nach der üblichen Technik über einen Kathodenfolger, einen Kathodenstrahloszillographen und eine Laufbildkamera registriert. Vor und nach jedem Einstich wurde das TP gemessen. So konnte eine mögliche elektrodenbedingte Drift der Nulllinie korrigiert werden. Beim *Ein-* und *Ausstich* wurden mehrere Typen beobachtet, zum

Beispiel: 1. Glatter Sprung von 0 nach -40 mV, 2. mehrere Sprünge von 0 nach -20 mV, von -20 nach -40 mV, 3. kleinere Sprünge bis annähernd kontinuierlicher Verlauf über 1 s von 0 nach -40 mV.

Der erste Typ wurde als glatter Einstich bewertet, wenn der Ausstich ebenso eindeutig war. Der zweite Typ läßt sich als Einstich in Zellen verschiedenen Potentials oder unterschiedlicher Art interpretieren (BOLBRING und HOOTON, 1954). Wenn die oben angeführten Kriterien a und b zutrafen, wurden diese Einstiche ebenfalls gewertet. Den dritten Typ bezeichnete RODDIE (1966) als "graduated penetration". Er führt diesen Einstichtyp auf ein Hängenbleiben an der Membranoberfläche zurück. BORTOFF (1961) fand mit großkalibrigen Druckelektroden einen ähnlichen Typ des Einstichs. Diese Druckelektroden sind in ihrem Widerstandsverhalten jedoch nicht genau beschrieben, d.h. der Widerstand der Elektroden mußte um ein Vielfaches höher sein als der offener Elektroden (LAVALLEE und SZABO, 1969). Bei unseren Mikroelektroden gingen wir in dem angegebenen Widerstandsbereich davon aus, daß sie offen waren und solche Artefakte nicht erzeugen konnten. Diesen dritten Einstichtyp werteten wir nur, wenn der Ausstich glatt war. Alle anderen Messungen wurden verworfen.

ERGEBNISSE

Das Ruhemembranpotential wurde in neun Stufen der K^+ -Außenkonzentration gemessen. Dabei wurde angestrebt, bei stehendem Einstich von normaler Krebslösung auf die jeweilige Testlösung überzugehen. Die Abb. 7 zeigt Ausschnitte aus Originalregistrierungen des Membranpotentials bei Variation der extracellulären K^+ -Konzentration und des pH-Wertes. In Tab. 2 sind die Ergebnisse der Messungen zusammengestellt. Beim Übergang auf Lösungen bestimmter K^+ -Konzentration tritt an einzelnen Präparaten eine Depolarisation (D), an anderen jedoch eine Hyperpolarisation (H) auf. Die jeweiligen Einzeleinstiche und die Übergänge wurden zusammengefaßt und nach der Hauptrichtung der Potentialveränderung aufgeführt, die gegebenenfalls statistisch errechnet wurde (Tab. 2, dritte Spalte; Mittelwert von D und H). Nicht gemessene, aber aus den Ergebnissen errechenbare Übergänge wurden in Tab. 2, Spalte 4 aufgeführt, z.B. Versuch Nr. 1: Die Übergänge von 2-5 x KCl und von 5-10 x KCl

lassen die Berechnung des Übergangs von $2 \rightarrow 10 \times \text{KCl}$ zu. Beim Wechsel der Lösungen wurde versucht, den Einstich mindestens 5-7 min zu registrieren, da sich nach dieser Zeit ein stationärer Zustand des Membranpotentials einstellt (vgl. HOLMAN, 1958). Sofern die Elektrode dabei aus der Zelle fiel (Abb. 7B), registrierten wir Einzeleinstiche in der jeweils geänderten Lösung, die zu einem Mittelwert zusammengefaßt wurden. Es zeigte sich, daß in einem Bereich der K^+ -Außenkonzentration von $0-23,45 \text{ mMol/l}$ sowohl depolarisierende wie hyperpolarisierende Wirkungen zu beobachten waren (SIEGEL *et al.*, 1974 b). Bei Mittelung der beiden entgegengesetzten Potentialbewegungen ergibt sich die Hauptrichtung der Potentialänderung.

Hyperpolarisation wurde beim Übergang von $2 \rightarrow 1 \times \text{KCl}$ aufgenommen. Anschließend wurde auf $20 \times \text{KCl}$ umgeschaltet. Bei Übergängen von $2 \rightarrow 20 \times \text{KCl}$ wie auch von $1 \rightarrow 20 \times \text{KCl}$ wurde die Elektrode meistens nach 1-2 min aus der Zelle herausgedrückt. Unter dem Mikroskop war eine deutliche Kontraktion des Präparates zu beobachten.

Wir fanden in wenigen Fällen bei $23,45 \text{ mMol/l } [\text{K}^+]_0$ Hyperpolarisationen. KONOLD *et al.* (1968) beobachteten bis zu $35,5 \text{ mMol/l } [\text{K}^+]_0$ eine Relaxation der Arterien. Hingegen berichteten BIAMINO und WESSEL (1972) von der Aorta der Ratte eine Hyperpolarisation nur bis zu $13,5 \text{ mMol/l } [\text{K}^+]_0$ und eine entsprechende Relaxation des Gefäßes. BRECHT *et al.* (1969) fanden eine maximale Dilatation an Schweinearterien bei $8-10 \text{ mMol/l } [\text{K}^+]_0$.

In unseren Versuchen zeigte sich, daß in 43,6 % der Übergänge von 4,7 auf $11,7 \text{ mMol/l } [\text{K}^+]_0$ eine Hyperpolarisation eintrat. Die maximale Hyperpolarisation liegt im Bereich von $2,3 \text{ mMol/l } [\text{K}^+]_0$ (vgl. Tab. 4).

Beim Übergang von normaler Krebs-Lösung auf K^+ -freie Lösungen beobachteten wir bei Registrierungen über 7 min in fast allen Fällen eine Depolarisation, während bis etwa 3 min nach dem Umschalten eine Hyperpolarisation auftrat.

Von der *Taenia coli* des Meerschweinchens berichtete CASTEELS (1973) eine rasche Depolarisation mit anschließender Hyperpolarisation, die aber den ursprünglichen Potentialwert nicht wieder erreichte. Insgesamt fand also eine Depolarisation statt.

Die depolarisierenden und hyperpolarisierenden Wirkungen bei Variation der K^+ -Außenkonzentration könnten durch Änderungen der K^+ -Permeabilität und des aktiven Na^+ -Transports erklärt werden (HENDRICKX und CASTEELS, 1974). Bei niedrigeren K^+ -Außenkonzentrationen als in normaler Krebs-Lösung steige P_K an, was Hyperpolarisation bedeuten würde. Würde die Na^+ -Auswärtspumpe jedoch gleichzeitig in ihrer Aktivität gehemmt, so käme insgesamt eine Depolarisation zustande. Bei der Gefäßmuskulatur sei dieser Effekt der einzig wirksame, wobei die K^+ -Permeabilität sich nicht verändere.

Beim Übergang von $[K^+]_0 = 4,69 \text{ mMol/l}$ auf $46,9 \text{ mMol/l}$ und $93,8 \text{ mMol/l}$ wurde nur rasche Depolarisation beobachtet. In einem Fall fanden wir beim Übergang auf $46,9 \text{ mMol/l}$ $[K^+]_0$ nach anfänglicher Depolarisation wieder eine Repolarisation. Eine Repolarisation in $93,8 \text{ mMol/l}$ $[K^+]_0$ als Anhaltspunkt für eine Relaxation (vgl. HENDRICKX und CASTEELS, 1974) wurde von uns auch nach einem Verbleib des Präparates von über 60 min in dieser Lösung nicht gefunden. Beim Zurückschalten von $93,8 \text{ mMol/l}$ nach $4,69 \text{ mMol/l}$ $[K^+]_0$ fanden wir eine sehr viel langsamere Repolarisation als die vorherige Depolarisation (vgl. HOLMAN, 1958). In Tab. 3 sind schließlich die Änderungen des Ruhemembranpotentials an der Hundecarotis bei Variation der K^+ -Außenkonzentration zusammengestellt, wobei sämtliche vorkommenden Lösungswechsel aus Tab. 2 berücksichtigt wurden. Die Potentialänderungen identischer Übergänge (Einzelversuche) in Tab. 2 wurden dabei gemittelt (Tab. 3, Spalte 4) und die Standardabweichung der Stichproben (Tab. 3, Spalte 5) und des Mittelwertes (Tab. 3, Spalte 6) berechnet.

An der *A. cerebri media* fanden wir ähnliche Reaktionen wie an der Hundecarotis (vgl. SIEGEL *et al.*, 1974 a). An dieser Struktur untersuchten wir auch die Wirkung verschiedener pH-Werte der Spülflüssigkeit auf das Ruhemembranpotential (Abb. 7). Bei Acidose ($pH = 6,8$) beobachteten wir eine Hyperpolarisation, bei Alkalose ($pH = 7,8$) eine Depolarisation (Abb. 7C; vgl. WAHL *et al.*, 1970; KNABE und BETZ, 1972).

Spontanaktivität. An Venen (FUNAKI und BOHR, 1964; AXELSSON *et al.*, 1966; CUTHBERT, 1966; GOLENHOFEN und v. LOH, 1970) und Arterien (RODDIE, 1966; STEEDMAN, 1966; BIAMINO *et al.*, 1970) wird von Spontanaktivität berichtet, sowohl in Form von langsamen Wellen als auch Spitzenpotentialen. An den Ca-

rotiden des Schafes (KEATINGE, 1966, 1968) und des Kaninchens (MEKATA, 1971, 1972) wurde keinerlei Spontanaktivität in normaler Krebs-Lösung beobachtet.

An der *A. carotis* des Hundes fanden wir sowohl in normaler Krebs-Lösung als auch bei geänderter K^+ -Außenkonzentration Spontanaktivität (Abb. 8). Hierbei beobachteten wir Potentialwellen in einem Frequenzbereich von $0,04 < \nu < 20$ Hz und Amplituden von $\pm 0,3$ mV bis ± 6 mV. Der Einfluß langsamer Potentialwellen auf die Größenangabe von Membranpotentialwerten ist zu vernachlässigen, da durch die Mittelung von zahlreichen Einzeleinstichen sowie stehenden Einstichen die durch "slow wave"-Aktivität bedingte Streuung herausfällt. Sehr selten registrierten wir auch vereinzelte, spontane Spitzenpotentiale. Jedoch rechnen wir die *A. carotis* eindeutig der tonischen glatten Muskulatur zu, wobei spärlich phasische Fasern eingestreut sein mögen (SOMLYO und SOMLYO, 1968).

DISKUSSION

Bereits 1902 entwickelte BERNSTEIN eine Theorie über die Entstehung des Membranpotentials. Er nahm an, daß die Membran für K^+ -Ionen selektiv permeabel sei, d.h. die Permeabilität für K^+ sehr viel höher als für andere Ionenspecies sein müsse. Bei Erregung dagegen verlöre die Membran diese Eigenschaft, und es erfolge ein nicht selektiver Einstrom von kleinen Ionen wie Na^+ und Cl^- . Obgleich später ein komplizierteres Bild der Vorgänge entstand, blieb die fundamentale Annahme von der selektiven Permeabilität der Zellmembran gültig.

HODGKIN und HUXLEY (1939, 1945) fanden, daß bei Erregung nicht einfach das Potential aufgehoben wird, sondern daß das Aktionspotential größer als das Ruhemembranpotential ist und nur kurze Zeit dauert. Weiter wurde beschrieben, daß die Membran nicht nur für K^+ , sondern auch für Cl^- selektiv permeabel ist (BOYLE und CONWAY, 1941). In Ruhe ist sie auch für Na^+ nicht absolut undurchlässig (KEYNES, 1954). Aus dieser Tatsache folgte, daß aktiver Transport für Na^+ aus der Zelle und für K^+ in die Zelle angenommen werden mußte (DEAN, 1941), wie er später auch nachgewiesen wurde (HODGKIN und KEYNES, 1955). Damit war ein erweitertes Bild der Membranprozesse entworfen. Passive

und aktive Ionenbewegungen über die Membran führen zu einem Gleichgewicht, wobei deren Permeabilitäten das Ruhemembranpotential bestimmen. Durch Vergiftung der Präparate mit 2,4-Dinitrophenol, Cyanid, Säuren und auch durch Abkühlung wurde bewiesen (HODGKIN und KEYNES, 1955), daß der aktive Transport an Stoffwechselprozesse gebunden ist. Es wurde eine eindeutige Reduktion im Na-Efflux und K-Influx beobachtet. Die für den aktiven Transport postulierten Ionenpumpen können entweder elektroneutral (HODGKIN und KEYNES, 1955) oder elektrogen (ADRIAN und SLAYMAN, 1966; THOMAS, 1972) arbeiten.

HODGKIN (1958) faßte aufgrund der experimentellen Arbeiten die Vorstellungen über die Membran in einem Modell zusammen (Abb. 9). Darin bedeuten E_{Na} , E_K und E_{Cl} die Ionengleichgewichtspotentiale, R_{Na} , R_K und R_{Cl} die Widerstände für die jeweilige Ionenspecies und C die Membrankapazität, die parallel zu den Ionenkanälen liegt. Das Ruhemembranpotential V_m muß zwischen diesen Gleichgewichtspotentialen liegen, sofern aktive Transportvorgänge bei seiner Genese ohne unmittelbaren Einfluß bleiben. Seine Größe wird von dem jeweiligen Überwiegen der Permeabilität der einen oder anderen Ionenspecies bestimmt. Unter der Annahme, daß die membran-nahen Ionenkonzentrationen direkt proportional zu den Konzentrationen in der umgebenden Flüssigkeit sind, ein konstantes elektrisches Feld über der Membran und konstante Diffusionsbedingungen vorliegen, entwickelte GOLDMAN (1943) die bekannte Gleichung, die von HODGKIN und KATZ (1949) auf den Nerven angewandt wurde.

$$V = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_o}.$$

Wäre Chlorid wie beim Nerven und Skelettmuskel passiv verteilt (HODGKIN und HOROWICZ, 1959 b), so könnte der Cl^- -Term entfallen. Bei Übertragung des Modells auf den glatten Muskel kann aber für keine Ionenspecies von einer passiven Ionenverteilung ausgegangen werden (CASTEELS und KURIYAMA, 1966; WAHLSTRÖM, 1973; SIEGEL *et al.*, 1974 a). Die Berechnung des Membranruhepotentials mit der GOLDMAN-Gleichung ergibt im allgemeinen an dieser Struktur erhebliche Differenzen zum gemessenen Wert.

Die Abhängigkeit des Membranpotentials von der K^+ -Außenkonzentration wurde

am Nerven (CURTIS und COLE, 1942; HUXLEY und STAMPFLI, 1951), an Skeletmuskel-fasern vom Frosch (ADRIAN, 1956; HODGKIN und HOROWICZ, 1959 b), am Frosch-herzen (HAAS *et al.*, 1966) und an der glatten Muskulatur der *Taenia coli* des Meerschweinchens (HOLMAN, 1957; KURIYAMA, 1963; CASTEELS und KURIYAMA, 1966) gemessen. Beim Nerven, an der Skelet- und Herzmuskulatur weicht die V-Kurve für $[K^+]_o < 30 \text{ mMol/l}$ von der E_K -Kurve ab. Während der lineare Teil der Kurve ($[K^+]_o > 30 \text{ mMol/l}$) als K^+ -Diffusionspotential diskutiert wird (HODGKIN, 1951), interpretiert man den abweichenden Teil als Folge einer erhöhten Na^+ -Permeabilität. Beim Herzen und an der glatten Muskulatur, insbesondere jedoch bei der von uns aufgenommenen Kurve an der glatten Gefäßmuskulatur, weicht das gemessene Membranpotential V erheblich von dem errechneten K^+ -Gleichgewichtspotential E_K ab (Abb. 10).

Das K^+ -Gleichgewichtspotential

Für den Nerven und den Skeletmuskel gilt, daß sich bei einem Wechsel des extracellulären Ionenmilieus die intracellulären Ionenverhältnisse nicht wesentlich ändern (BOYLE und CONWAY, 1941; ADRIAN, 1956). Vom glatten Muskel (*Taenia coli*) ist dagegen bekannt, daß sich die Ionengehalte verändern (GOODFORD und HERMANSEN, 1961). Auch die Annahme von nur zwei Kompartimenten (Intra- und Extracellulärraum) bei der Bestimmung der intracellulären Ionenkonzentration trifft für die *Taenia coli* (GOODFORD und LEACH, 1966) und die glatte Gefäßmuskulatur (SCHOFFENIELS *et al.*, 1969) nicht zu. Dies drückt sich sowohl in der Verteilung von Inulin wie auch in der Ionenbindung in einem weiteren Kompartiment aus. Damit sind Bestimmungen des Extracellulär-raumes und der intracellulären Ionenkonzentrationen mit erheblichen Unsicherheiten behaftet. Bei der Hundecarotis muß von wenigstens drei Kompartimenten ausgegangen werden (SIEGEL *et al.*, 1974 a): Intracellulärraum, extracellulärer Flüssigkeitsraum und extracelluläres Bindegewebsfaservolumen. Unter Berücksichtigung dieses Modells (BERTSCHE und SIEGEL, 1974) wurden von uns die Konzentrationen in normaler und hyperkalischer ($[K^+]_o = 46,9 \text{ mMol/l}$) Krebs-Lösung bestimmt (SIEGEL *et al.*, 1974 a, b; vgl. Tab. 1). In hyperkalischer Lösung fällt die deutliche Zunahme der K^+ -Innenkonzentration auf. Hierfür können zwei Gründe angeführt werden: i) Der elektrogene, aktive K^+ -Einwärtstransport ist von der K^+ -Außenkonzentration abhängig und daher vermehrt (HAAS *et al.*, 1967), ii) die treibende Kraft ($V - E_K$) für den passiven K^+ -Nettostrom hat gegenüber normokalischer Krebs-Lösung ihr Vorzeichen ge-

ändert und ist nunmehr nach innen gerichtet (SIEGEL *et al.*, 1974 a). Das hierdurch bedingte, starke Anwachsen der K^+ -Innenkonzentration bewirkt, daß bei Variation von $[K^+]_o$ die Steilheit der E_K -Kurve nur 53 mV statt 61,5 mV pro zehnfache Änderung von $[K^+]_o$ beträgt. Ein ähnlicher Wert wurde von CASTEELS und KURIYAMA (1966) an der *Taenia coli* berichtet.

Die Na^+ -Innenkonzentration ist in hyperkalischer Lösung analog zur Na^+ -Außenkonzentration erniedrigt, so daß das Na^+ -Gleichgewichtspotential E_{Na} in einem weiten Bereich von $[K^+]_o$ und $[Na^+]_o$ konstant bleibt. Die allgemein hohen Werte für $[Na]_i$ legen den Schluß nahe, daß Na^+ -Ionen intracellulär teilweise strukturell gebunden vorliegen (vgl. LING, 1962), so daß in der Berechnung von E_{Na} mit Hilfe der Ionenkonzentrationen erhebliche Unsicherheiten liegen können. HINKE (1961) und LEV (1964) fanden bei Messung der intracellulären Ionenaktivitäten beim Riesenaxon des Tintenfisches und an Skelettmuskelfasern vom Frosch einen Koeffizienten für Natrium von 0,2. Sie nahmen eine gebundene Na^+ -Fraktion von 70 % an.

Aufgrund der relativ hohen intracellulären Cl^- -Konzentration an der Carotisarterie weicht E_{Cl} stark vom Membranpotential ab, so daß eine rein passive Ionenverteilung ausgeschlossen ist (vgl. CASTEELS und KURIYAMA, 1966). In der Berechnung von E_{Cl} und E_K stecken kaum Fehlermöglichkeiten, nachdem die Aktivitätskoeffizienten für diese Ionenspecies von KEYNES (1963) und CASTEELS und KURIYAMA (1966) intra- und extracellulär nahezu gleich angegeben wurden.

Das Ruhemembranpotential

In normaler Krebs-Lösung liegen die Ruhemembranpotentiale an der glatten Muskulatur dem Betrag nach erheblich niedriger als an den übrigen in Abb. 10 angegebenen Strukturen. Insbesondere sind die Potentiale an den Gefäßen stark depolarisiert. Das von uns gemessene Ruhemembranpotential an der glatten Muskulatur der Hundecarotis befindet sich in Übereinstimmung mit den Werten in der Literatur an gleichen und ähnlichen Strukturen (MEKATA, 1971, 1972; BIAMINO und WESSEL, 1972; WAHLSTRÖM, 1973; HENDRICKX und CASTEELS, 1974). Zur Erklärung dieser niedrigen Potentiale an der glatten Muskulatur werden verschiedene Modelle herangezogen.

Eine einfache Annahme ist, daß die Na^+ -Permeabilität sich der K^+ -Permeabili-

tät nähert oder sie sogar übertrifft. Die Aussagen über die Ionenpermeabilitäten sind jedoch unterschiedlich (BOLBRING und KURIYAMA, 1963 b; SCHATZMANN, 1964; CASTEELS, 1970). SIEGEL *et al.* (1971) fanden für die Hundecarotis beinahe gleiche Na^+ - und K^+ -Leitfähigkeiten. Die aktive Na^+ -Pumpe muß demzufolge stärker arbeiten. Wirkt sie elektrogen (THOMAS, 1972), so hat sie einen größeren Einfluß auf das Ruhemembranpotential. Das Membranpotential kann also von passiven Ionenbewegungen und vornehmlich von einem aktiven Na^+ -Transport generiert werden (CASTEELS, 1970). Zum Nachweis einer elektrogenen Na^+ -Pumpe sind eine Anzahl von Arbeiten erschienen: Am Magen-Darm-Trakt (TOMITA und YAMAMOTO, 1971; CASTEELS, 1971; BOLTON, 1973 a, b), an der Aorta (v. BREEMEN *et al.*, 1973), der Ohrarterie des Kaninchens (HENDRICKX und CASTEELS, 1974) sowie an der Hundecarotis (SIEGEL *et al.*, 1971, 1974 b). Eine zusammenfassende Darstellung dieses Themas stammt von THOMAS (1972).

Der Anteil des von der Na^+ -Pumpe erzeugten Potentials am Ruhemembranpotential wird von CASTEELS (1973) mit 20 mV an der Portalvene und mit 53 % an der *Taenia coli* beim Na^+ -angereicherten Präparat angegeben. v. BREEMEN *et al.* (1973) rechnen dem aktiven Na^+ -Transport an der Kaninchen-Aorta 29 mV zu (sie beobachteten bei Vergiftung mit k-Strophantin eine Depolarisation um 29 mV). REUTER *et al.* (1973) fanden an der Pulmonalarterie des Kaninchens bei Vergiftung mit Strophantin eine depolarisierende Wirkung von 5-10 mV. Am Herzen wurde von HAAS *et al.* (1967) der aktive Na^+ -Transport in Abhängigkeit von der Na^+ - und K^+ -Außenkonzentration ermittelt. Der Verlauf dieser Kurve zeigt große Ähnlichkeit mit der von uns gemessenen Potentialkurve bei denselben Änderungen des extracellulären Ionenmilieus. Die Ähnlichkeit beider Kurven legt den Schluß nahe, daß der aktive Na^+ -Transport eine entscheidende Rolle bei der Potentialgenese an der Hundecarotis spielen mag.

BOLBRING und KURIYAMA (1973) stellten den aktiven Ca^{++} -Transport in den Mittelpunkt ihrer Untersuchungen über die Wirkung von Catecholaminen auf die glatte Muskulatur der *Taenia coli*. Sie messen dieser Pumpe Bedeutung für die spontanen Aktivitäten des Membranpotentials bei. Diese Interpretation fußt auf der von TOMITA und WATANABE (1973) erstellten Hypothese, daß Ca^{++} an der Innenseite der Membran gebunden sei und die K^+ -Permeabilität beeinflusse. Wird Ca^{++} durch eine vom Stoffwechsel getriebene Pumpe von membranal Bin-

dungsstellen abgezogen, dann können K^+ -Ionen die Stellen der Ca^{++} -Ionen einnehmen. P_K sinkt, und die Folge ist eine Depolarisation. HOLMAN (1973) ergänzte diese Vorstellung und betonte die Möglichkeit, daß die Depolarisation ihrerseits die Na^+ -Permeabilität im Sinne einer Erhöhung beeinflussen kann. Damit wäre ein Modell der Regulation des Membranpotentials entwickelt, bei dem der aktive Ca^{++} -Transport im Mittelpunkt steht.

Ein weiterer Gesichtspunkt bei der Potentialentstehung wurde von WAHLSTRÖM (1973) zur Diskussion gestellt. Er beobachtete im wesentlichen eine Wechselwirkung zwischen den K^+ - und Cl^- -Ionen und sieht im aktiven Transport der Cl^- -Ionen den das Membranpotential generierenden Faktor an der glatten Muskulatur der Gefäße. Die Wirkung des Na^+ auf das Potential hielt er für sehr gering. Zu beachten bleibt, daß verschiedene Strukturen und verschiedene Methoden zu den aufgezeigten Interpretationen führten.

In K^+ -freier Lösung fanden wir eine Depolarisation, wie sie von CASTEELS (1973) an der *Taenia coli* des Meerschweinchens, von HENDRICKX und CASTEELS (1974) an der Ohrarterie des Kaninchens sowie von REUTER *et al.* (1973) an der Aorta und der Pulmonalarterie des Kaninchens berichtet wurde. KONOLD *et al.* (1968) und BRECHT *et al.* (1969) fanden in K^+ -freier Lösung eine Kontraktion bei isolierten Arterien vom Rind und vom Schwein. Die Depolarisation wird von HENDRICKX und CASTEELS (1974) im wesentlichen als Reduktion einer elektrogenen Na^+ -Pumpe interpretiert, während die Depolarisation in hyperkalischer Lösung auf eine Senkung des K^+ -Gleichgewichtspotentials zurückgeführt wird.

Im hyperkalischen Bereich fanden wir einen Schnittpunkt der E_K -Kurve mit der Potentialkurve bei etwa $[K^+]_0 = 35 \text{ mMol/l}$ (vgl. SIEGEL *et al.*, 1974 a). Ein ähnlicher Schnittpunkt wird in der Literatur von HAAS *et al.* (1966) am Myokard berichtet. Dieser Punkt bezeichnet die Umkehr des passiven K^+ -Stromes über die Membran. Die genaue K^+ -Außenkonzentration, bei der Stromumkehr stattfindet, müßte durch Fluxexperimente ermittelt werden. Hinweise dafür, daß ein solcher Schnittpunkt an anderen Strukturen ebenfalls existieren könnte, sind in Arbeiten von BURNSTOCK (1958), BOLBRING und KURIYAMA (1963 a) und KURIYAMA (1970) bei Messung des Membranpotentials unter Acetylcholin an der *Taenia coli* zu finden. In den Arbeiten ist nach Erhöhung der K^+ -Außenkonzentration

über 30 mMol/l bei einer durch Acetylcholin depolarisierten Membran eine Hyperpolarisation zu sehen, was für eine Umkehr des Stromflusses spricht. Die Linearität der Potentialkurven im Bereich $[K^+]_0 > 30$ mMol/l bei den in Abb. 10 angeführten Strukturen fanden wir bei der Hundecarotis nicht in dieser Deutlichkeit.

Inwieweit die Depolarisation (Hyperpolarisation) von Kontraktion (Relaxation) begleitet ist, wurde in dieser Arbeit nicht experimentell untersucht. Ist das Potential auslösender Faktor der mechanischen Spannungsentwicklung (MEKATA, 1971; BIAMINO und WESSEL, 1972; CASTEELS, 1973), dann ist seine nur geringe Änderung in einem Bereich von $1,17 \text{ mMol/l} < [K^+]_0 < 11,73 \text{ mMol/l}$ für die Gefäßweite verantwortlich (KONOLD *et al.*, 1968; BRECHT *et al.*, 1969).

Andere Autoren berichten jedoch von einer Dissoziation zwischen Änderungen des Membranpotentials und des kontraktile Tonus (SU *et al.*, 1964; AXELSSON und HOLENBERG, 1971; REUTER *et al.*, 1973; v. BREEMEN *et al.*, 1973), so daß eine Tonusänderung durchaus ohne Potentialverschiebung stattfinden könnte. CUTHBERT (1966) und BIAMINO und WESSEL (1973) beobachteten dagegen bei kleinsten Potentialschwankungen Veränderungen der mechanischen Spannung. Es wird verfeinerter Meßmethoden, insbesondere der mechanischen Spannung, bedürfen, um die Frage einer Korrelation zwischen elektrischen und mechanischen Erscheinungen an der glatten Gefäßmuskulatur endgültig beantworten zu können.

LITERATUR

- ADRIAN, R.H.: The effect of internal and external K^+ concentration and the membrane potential of frog muscle. *J. Physiol. (Lond.)* 133, 631-658 (1956).
- ADRIAN, R.H., SLAYMAN, C.L.: Membrane potential and conductance during transport of sodium, potassium and rubidium in frog muscle. *J. Physiol. (Lond.)* 184, 970-1014 (1966).
- AGIN, D.P.: Electrochemical properties of glass microelectrodes. In: *Glass Microelectrodes*, pp. 62-75, edited by M. Lavallée, O.F. Schanne, N.C. Herbert, New York, Sydney, London, Toronto: John Wiley, 1969.
- ANREP, G. von: On local vascular reaction and their interpretation. *J. Physiol. (Lond.)* 45, 318-327 (1912/13).
- AXELSSON, J., JOHANSSON, B., JONSSON, O., WAHLSTRÖM, B.: The effects of adrenergic drugs on electrical and mechanical activity of the portal vein. *Symp. Electr. Activ. Innerv. Blood Vessels*, Cambridge, 1966. *Bibl. anat.* 8, 16-20.

- AXELSSON, J., HOLENBERG, B.: The effects of K^+ -free solution on tension development in the smooth muscle of *Taenia coli* from guinea-pig. *Acta physiol. scand.* 82, 322-332 (1971).
- BAYLISS, W.M.: On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J. Physiol. (Lond.)* 28, 220-231 (1902).
- BERNSTEIN, J.: Untersuchungen zur Thermodynamik der bioelektrischen Ströme. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 92, 521-562 (1902).
- BERTSCHE, O., SIEGEL, G.: Studies on the functional morphology of vascular smooth muscle. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 347 (Suppl.), R14 (1974).
- BIAMINO, G., KRUCKENBERG, P., WESSEL, H.J.: Ober Beziehungen zwischen Tonus und elektrischer Aktivität der glatten Gefäßmuskulatur. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 315, 212-231 (1970).
- BIAMINO, G., WESSEL, H.J.: Korrelation zwischen rhythmischen Spannungsänderungen der glatten Gefäßmuskulatur und der extra- und/oder intrazellulär abgeleiteten elektrischen Aktivität. In: *Vascular Smooth Muscle*, p. 6, edited by E. Betz, Berlin: Springer-Verlag, 1972.
- BIAMINO, G., WESSEL, H.J.: Potassium-induced relaxation of vascular smooth muscle: a possible mechanism of exercise hyperaemia. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 343, 95-106 (1973).
- BOLTON, T.B.: Effects of electrogenic sodium pump on the membrane potential of longitudinal smooth muscle from terminal ileum of guinea pig. *J. Physiol. (Lond.)* 228, 693-712 (1973 a).
- BOLTON, T.B.: Action of Ach on the longitudinal muscle of guinea pig ileum: the role of an electrogenic sodium pump. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 265, 107-114 (1973 b).
- BORTOFF, A.: Electrical activity of intestine recorded with pressure electrode. *Am. J. Physiol.* 201, 209-212 (1961).
- BOYLE, P.J., CONWAY, E.J.: Potassium accumulation in muscle and associated changes. *J. Physiol. (Lond.)* 100, 1-63 (1941).
- BOZLER, E.: The action potentials of visceral smooth muscle. *Am. J. Physiol.* 124, 502-510 (1938).
- BRADY, A.J., WOODBURY, J.W.: The sodium-potassium hypothesis as the basis of electrical activity in frog ventricle. *J. Physiol. (Lond.)* 154, 385-407 (1960).
- BRECHT, K., KONOLD, P., GEBERT, G.: The effect of potassium, catecholamines and other vasoactive agents on isolated arterial segments of the muscular type. *Physiol. Bohemoslov.* 18, 15-21 (1969).
- BREEMEN, C. van, FARINAS, B.R., CASTEELS, R., GERBA, P., WUYTACK, F., DETH, R.: Factors controlling cytoplasmic Ca^{++} concentration. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 265, 57-71 (1973).
- BOLBRING, E.: Smooth muscle potential recorded with intracellular electrodes. *J. Physiol. (Lond.)* 120, 8-9P (1953).
- BOLBRING, E., HOOTON, J.N.: Membrane potentials of smooth muscle fibres in the rabbit's sphincter pupillae. *J. Physiol. (Lond.)* 125, 292-301 (1954).

- BOLBRING, E., KURIYAMA, H.: Effects of changes in the external sodium and calcium concentrations on spontaneous electrical activity in smooth muscle of guinea pig *Taenia coli*. J. Physiol. (Lond.) 166, 29-58 (1963 a).
- BOLBRING, E., KURIYAMA, H.: Effects of changes in ionic environment on the action of acetylcholine and adrenaline on the smooth muscle cells of guinea pig *Taenia coli*. J. Physiol. (Lond.) 166, 59-74 (1963 b).
- BOLBRING, E., KURIYAMA, H.: The action of catecholamines on guinea-pig *Taenia coli*. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 265, 115-121 (1973).
- BURNSTOCK, G.: The effect of acetylcholine on membrane potential and excitability in *Taenia coli* of the guinea-pig. J. Physiol. (Lond.) 143, 165-182 (1958).
- BURNSTOCK, G.: Structure of smooth muscle and its innervation. In: Smooth Muscle, pp. 1-69, edited by E. Bülbring, A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita. London: Edward Arnold Ltd., 1970.
- CASTEELS, R.: The action of ouabain on the smooth muscle cells of guinea-pig *Taenia coli*. J. Physiol. (Lond.) 184, 131-142 (1966).
- CASTEELS, R.: The relation between the membrane potential and the ion distribution in smooth muscle cells. In: Smooth Muscle, pp. 70-99, edited by E. Bülbring, A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita. London: Edward Arnold Ltd., 1970.
- CASTEELS, R.: Electrogenic sodium pump in smooth muscle cells of guinea-pig *Taenia coli*. J. Physiol. (Lond.) 217, 297-313 (1971).
- CASTEELS, R.: Active transport and resting potential in smooth muscle cells. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 265, 47-56 (1973).
- CASTEELS, R., KURIYAMA, H.: Membrane potential and ion content in the smooth muscle of guinea-pig *Taenia coli* at different external potassium concentrations. J. Physiol. (Lond.) 184, 120-130 (1966).
- CURTIS, H.J., COLE, K.S.: Membrane resting and action potentials from the squid giant axon. J. cell. comp. Physiol. 19, 135-144 (1942).
- CUTHBERT, A.W.: Electrical activity in mammalian veins. In: Symp. Electr. Activ. Innerv. Blood Vessels, edited by W.R. Keatinge. Cambridge 1966. Basel, New York: Karger, Bibl. anat. 8, pp. 16-20.
- DEAN, R.B.: Theories of electrolyte equilibrium in muscle. Biol. Symp. 3, 331-348 (1941).
- DRAPER, M.H., WEIDMANN, S.: Cardiac resting and action potentials recorded with an intracellular electrode. J. Physiol. (Lond.) 115, 74-94 (1951).
- FUNAKI, S.: Studies on membrane potentials of vascular smooth muscle with intracellular micro-electrodes. Proc. Jap. Acad. 34, 534-536 (1958).
- FUNAKI, S.: Spontaneous spike discharge of vascular smooth muscle. Nature (Lond.) 191, 1102-1103 (1961).
- FUNAKI, S., BOHR, D.F.: Electrical and mechanical activity of isolated vascular smooth muscle of the rat. Nature (Lond.) 203, 192-194 (1964).
- GOLENHOFEN, K., LOH, D. von: Intracelluläre Potentialmessungen zur normalen Spontanaktivität der isolierten Portalvene des Meerschweinchens. Pflügers Arch. ges. Physiol. 319, 82-100 (1970).

- GOLDMAN, D.E.: Potential, impedance and rectification in membrane. J. gen. Physiol. 27, 37-60 (1943).
- GOODFORD, P.J.: The calcium content of smooth muscle of guinea-pig *Taenia coli*. J. Physiol. (Lond.) 192, 145-157 (1967).
- GOODFORD, P.J., HERMANSEN, K.: Sodium and potassium movements in the unstriated muscle of guinea-pig *Taenia coli*. J. Physiol. (Lond.) 158, 426-448 (1961).
- GOODFORD, P.J., LEACH, E.H.: The extracellular space of the smooth muscle of guinea-pig *Taenia coli*. J. Physiol. (Lond.) 186, 1-10 (1966).
- GREVEN, K.: Über Ruhe- und Aktionspotentiale der glatten Muskulatur nach Untersuchungen mit Glaskapillar-Elektroden. Z. Biol. 106, 1-15 (1953).
- HAAS, H.G., GLITSCH, H.G., KERN, R., unter Mitarbeit von HANTSCH, F. und SIEGEL, G.: Kalium-Fluxe und Membranpotential am Froschvorhof in Abhängigkeit von der Kalium-Außenkonzentration. Pflügers Arch. ges. Physiol. 288, 43-64 (1966).
- HAAS, H.G., HANTSCH, F., OTTER, H.P., SIEGEL, G.: Untersuchungen zum Problem des aktiven K- und Na-Transports am Myokard. Pflügers Arch. ges. Physiol. 294, 144-168 (1967).
- HENDRICKX, H., CASTEELS, R.: Electrogenic sodium pump in arterial smooth muscle. Pflügers Arch. ges. Physiol. 346, 299-306 (1974).
- HINKE, J.A.M.: The measurement of sodium and potassium activities in the squid axon by means of cation selective glass microelectrodes. J. Physiol. (Lond.) 156, 314-335 (1961).
- HODGKIN, A.L.: The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. Biol. Rev. 26, 339-409 (1951).
- HODGKIN, A.L.: Ionic movement and electrical activity in giant nerve fibres. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 148, 1-37 (1958).
- HODGKIN, A.L., HOROWICZ, P.: Movements of sodium and potassium in single muscle cells. J. Physiol. (Lond.) 145, 405-432 (1959 a).
- HODGKIN, A.L., HOROWICZ, P.: The influence of potassium and chloride ions on the membrane potential of single muscle fibres. J. Physiol. (Lond.) 148, 127-160 (1959 b).
- HODGKIN, A.L., HUXLEY, A.F.: Action potentials recorded from inside a nerve fibre. Nature (Lond.) 144, 710-711 (1939).
- HODGKIN, A.L., HUXLEY, A.F.: Resting and action potentials in single nerve fibres. J. Physiol. (Lond.) 104, 176-195 (1945).
- HODGKIN, A.L., KATZ, B.: The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. J. Physiol. (Lond.) 108, 37-77 (1949).
- HODGKIN, A.L., KEYNES, R.D.: Active transport of cations in giant axons from *Sepia* and *Loligo*. J. Physiol. (Lond.) 128, 28-60 (1955).
- HOLMAN, M.E.: The effect of changes in potassium chloride concentration on the membrane potential, electrical activity and tension of intestinal smooth muscle. J. Physiol. (Lond.) 137, 77-78P (1957).
- HOLMAN, M.E.: Membrane potentials recorded with high resistance microelectrodes and the effects of changes in ionic environment on the electrical and mechanical activity of the smooth muscle of *Taenia coli* of the guinea-pig. J. Physiol. (Lond.) 141, 464-488 (1958).

- HOLMAN, M.E.: Electrophysiology of vascular smooth muscle. *Ergebn. Physiol.* 61, 137-177 (1969).
- HOLMAN, M.E.: A survey of the new findings presented and the discussion arising during session I, II and III. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 265, 157-165 (1973).
- HUXLEY, A.F., STAMPFLI, R.: Effect of potassium on resting and action potentials of single myelinated nerve fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 112, 496-508 (1951).
- KEATINGE, W.R.: Role of electrical activity in controlling mechanical tone of mammalian arteries. In: *Symp. Electr. Activ. Innerv. Blood Vessels*, edited by W.R. Keatinge. Cambridge, 1966. Basel, New York: Karger. *Bibl. anat.* 8, pp. 21-24.
- KEATINGE, W.R.: Sodium flux and electrical activity of arterial smooth muscle. *J. Physiol. (Lond.)* 194, 185-200 (1968).
- KEATINGE, W.R., RICHARDSON, D.W.: Measurement of electrical activity in arterial smooth muscle by a sucrose gap method. *J. Physiol. (Lond.)* 169, 57-58P (1963).
- KERN, R.: Untersuchungen über die elektrischen Eigenschaften von Glasmikroelektroden. Dissertation, Heidelberg 1966.
- KEYNES, R.D.: The ionic fluxes in frog muscle. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 142, 359-382 (1954).
- KEYNES, R.D.: Chloride in the squid giant axon. *J. Physiol. (Lond.)* 169, 690-705 (1963).
- KNABE, K., BETZ, E.: The effect of varying extracellular K^+ , Mg^{++} and Ca^{++} on the diameter of pial arterioles. In: *Vascular Smooth Muscle*, pp. 83-85, edited by E. Betz. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 1972.
- KONOLD, P., GEBERT, G., BRECHT, K.: The effect of potassium on the tone of isolated arteries. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 301, 285-291 (1968).
- KOCHLER, G.: Zur Frage der Übertragungseigenschaften von Glasmikroelektroden bei intrazellulären Membranpotentialmessungen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 280, 210-223 (1964).
- KURIYAMA, H.: The influence of potassium, sodium and chloride on the membrane potential of smooth muscle of the *Taenia coli*. *J. Physiol. (Lond.)* 166, 15-28 (1963).
- KURIYAMA, H.: Effects of ions and drugs on the electrical activity of smooth muscle. In: *Smooth Muscle*, pp. 366-395, edited by E. Bülbbring, A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita. London: Edward Arnold Ltd, 1970.
- LAVALLÉE, M., SZABO, G.: The effects of glass surface conductivity phenomena on the tip potential of glass microelectrodes. In: *Glass Microelectrodes*, pp. 95-110, edited by M. Lavallée, O.F. Schanne, N.C. Hebert. New York, Sydney, London, Toronto: John Wiley 1969.
- LEV, A.A.: Determination of activity and activity coefficients of potassium and sodium ions in frog muscle fibres. *Nature (Lond.)* 201, 1132-1134 (1964).
- LING, G.N.: A physical theory of the living state: the association-induction hypothesis. New York: Blaisdell 1962.
- LING, G., GERARD, R.W.: The normal potential of frog sartorius fibres. *J. cell. comp. Physiol.* 34, 383-396 (1949).

- MEKATA, F.: Electrophysiological studies of the smooth muscle cell membrane of the rabbit common carotid artery. *J. Gen. Physiol.* 57, 738-751 (1971).
- MEKATA, F.: Biophysical effects of adrenaline on the smooth muscle of the rabbit common carotid artery. *J. Gen. Physiol.* 59, 92-102 (1972).
- NASTUK, W.L., HODGKIN, A.L.: The electrical activity of single muscle fibres. *J. cell. comp. Physiol.* 35, 39-73 (1950).
- REUTER, H., BLAUSTEIN, M.P., HAEUSLER, G.: Na-Ca exchange and tension development in arterial smooth muscle. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 265, 87-94 (1973).
- RODDIE, I.C.: The transmembrane potential changes associated with smooth muscle activity in turtle arteries and veins. *J. Physiol.* 163, 138-150 (1962).
- RODDIE, I.C.: Electrical and mechanical activity in turtle arteries and veins. In: *Symp. Electr. Activ. Innerv. Blood Vessels*, edited by W.R. Keatinge. Cambridge 1966. Basel, New York: Karger. *Bibl. anat.* 8, pp. 1-4.
- SCHATZMANN, H.J.: Erregung und Kontraktion glatter Vertebratenmuskeln. *Ergebn. Physiol.* 55, 28-130 (1964).
- SCHOFFENIELS, E., HAGEMEYER, F., RORIVE, G.: Ionic composition of the arterial wall. In: *Biochemie der Gefäßwand*, pp. 67-88, edited by M. Comél, L. Laszt. Basel: Karger 1969.
- SIEGEL, G.: Ionenfluxe am Myokard. Dissertation, Heidelberg 1968.
- SIEGEL, G., JÄGER, R., NOLTE, J., BERTSCHE, O., ROEDEL, H., SCHRÖTER, R.: Ionic concentrations and membrane potential in cerebral and extracerebral arteries. In: *Pathology of Cerebral Microcirculation*, pp. 96-120, edited by J. Cervós-Navarro. Berlin, New York: Walter de Gruyter 1974 a.
- SIEGEL, G., KOEPCHEN, H.P., ROEDEL, H.: Slow oscillations of transmembrane Na and K fluxes in vascular smooth muscle. In: *Vascular Smooth Muscle*, pp. 3-6, edited by E. Betz. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 1972.
- SIEGEL, G., ROEDEL, H., JÄGER, R., BERTSCHE, O.: Relationship between membrane potential of vascular smooth muscle and external K^+ concentration. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 347, R14 (1974 b).
- SIEGEL, G., ROEDEL, H., KOEPCHEN, H.P.: Membrane permeability and active transport in vascular smooth muscle. In: *Membranes, transport*, vol. III, pp. 277-288, edited by E. Broda, A. Locker, H. Springer-Lederer. Wien: Verlag der Wiener Medizinischen Akademie 1971.
- SOMLYO, A.P., SOMLYO, A.V.: Vascular smooth muscle. I. Normal structure, pathology, biochemistry, and biophysics. *Pharmacol. Rev.* 20, 197-272 (1968).
- STEEDMAN, W.M.: Microelectrode studies on mammalian vascular muscle. *J. Physiol. (Lond.)* 186, 382-400 (1966).
- SU, C., BEVAN, J.A., URSILLO, R.: Electrical quiescence of pulmonary artery smooth muscle during sympathomimetic stimulation. *Circ. Res.* 15, 20-27 (1964).
- THOMAS, T.: Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells. *Physiol. Rev.* 52, 563-594 (1972).

- TOMITA, T., WATANABE, H.: Factors controlling myogenic activity in smooth muscle. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 265, 73-85 (1973).
- TOMITA, T., YAMAMOTO, T.: Effects of removing the external potassium on the smooth muscle of guinea-pig *Taenia coli*. J. Physiol. (Lond.) 212, 851-868 (1971).
- WACHOLDER, K.: Haben die rhythmischen Spontankontraktionen einen nachweisbaren Einfluß auf den Blutstrom? Pflügers Arch. ges. Physiol. 190, 222-229 (1921).
- WAHL, M., DEETJEN, P., THURAU, K., INGVAR, D.H., LASSEN, N.A.: Micropuncture evaluation of the importance of perivascular pH for the arteriolar diameter on the brain surface. Pflügers Arch. ges. Physiol. 316, 152-163 (1970).
- WAHLSTRÖM, B.A.: Ionic fluxes in the rat portal vein and the applicability of the Goldman equation in predicting the membrane potential from flux data. Acta physiol. scand. 89, 436-448 (1973).
- WENDE, W., PEIPER, U.: Wechselwirkung von Kalium und Noradrenalin auf die Spannungsentwicklung des isolierten Gefäßmuskels. Pflügers Arch. ges. Physiol. 320, 133-141 (1970).
- WOODBURY, J.W., MCINTYRE, D.M.: Electrical activity of single muscle cells of pregnant uteri studied with intracellular ultramicroelectrodes. Am. J. Physiol. 177, 355-360 (1954).
- WOODBURY, L.A., WOODBURY, J.W., HECHT, H.H.: Membrane resting and action potential of single cardiac muscle fibre. Circulation 1, 264-266 (1950).

Tabelle 1. Ionenkonzentration, Gleichgewichtspotential sowie Membranpotential bei Variation der K^+ -Außenkonzentration.

	NORMOKALISCH	HYPERKALISCH	NORMOKALISCH	
$[K]_o$	4,7	46,9	4,7	mMol/l
$[K]_i$	87,7	120,4	80,8	mMol/l FW
E_K	- 78,3	- 25,2	- 76,1	mV
$[Na]_o$	151,2	108,9	151,2	mMol/l
$[Na]_i$	68,2	35,4	75,1	mMol/l FW
E_{Na}	+ 21,3	+ 30,0	+ 18,7	mV
$[Cl]_o$	140,8	140,8	140,8	mMol/l
$[Cl]_i$	70,2	69,3	65,3	mMol/l FW
E_{Cl}	- 18,6	- 18,9	- 20,5	mV
V	- 43,3	- 31,6	- 42,0	mV

$[c]_o$ = Außenkonzentration

$[c]_i$ = Innenkonzentration

E_i = Gleichgewichtspotential

V = Membranpotential

FW = Faserwasser

Tabelle 2. Einfluß der K^+ -Außenkonzentration auf das Ruhemembranpotential.

- ¹ n = Vielfaches der Konzentration einer 2,35 mMol/l KCl-Krebslösung.
- ² Potentialänderungen beim Wechsel der K^+ -Außenkonzentration. Die Werte wurden durch Vergleich der Membranpotentiale der Einzeleinstiche bei dem jeweiligen Lösungswechsel während stehenden Einstichs ermittelt. In Klammern: Anzahl der stehenden Einstiche bzw. gemittelte Werte mehrerer Einstiche einer Serie. D = Depolarisation; H = Hyperpolarisation.
- ³ Die Potentialänderung wurde aus den experimentell ermittelten Werten der dritten Spalte gefunden.

Versuch Nr.	Lösungs- wechsel ¹ n x KCl	Potentialänderung ² [mV]			Errechnete Übergänge ³ [mV]
		D [mV]	H [mV]	Mittelwert von D und H [mV]	
1	2 → 5	6,90 (6)	5,05 (2)	3,92 D	
	5 → 10	4,12 (2)			
	2 → 10	2,22 (2)	3,16 (4)	1,36 H	8,04 D
2	2 → 10	8,87 (10)	1,53 (1)	7,92 D	
	2 → 5	9,8 (1)	0,83 (1)	4,49 D	
	5 → 10	4,14 (2)			3,43 D
3	2 → 10	9,09 (2)			
	10 → 20	8,94 (5)			
	2 → 20	20,03 (1)			18,3 D
4	2 → 20	20,18 (3)			
	2 → 40	23,72 (2)			
	20 → 40	6,88 (11)			3,54 D
5	2 → 5	3,78 (2)	1,94 (5)	0,30 H	
	5 → 10	5,02 (3)			
	2 → 10	5,15 (1)			4,72 D
6	2 → 20	13,27 (5)			16,87 D
	2 → 40				
	20 → 40	3,60 (7)			
7	2 → 10	8,44 (7)			
	2 → 20				17,14 D
	10 → 20	8,70 (3)			
8	2 → 5	2,59 (10)	2,54 (7)	0,47 D	
	2 → 20				8,02 D
	5 → 20	7,55 (7)			

Fortsetzung Tabelle 2

Versuch Nr.	Lösungs- wechsel ¹ n x KCl	Potentialänderung ² [mV]			Errechnete Obergänge ³ [mV]
		D [mV]	H [mV]	Mittelwert von D und H [mV]	
9	1 → 2	2,37 (22)	1,91 (14)	0,71 D	14,43 D
	1 → 40	15,14 (2)			
	2 → 40	13,18 (1)			
10	2 → 1/5	8,53 (4)			26,02 D
	1/5 → 20	17,50 (1)			
	2 → 20				
11	20 → 40	6,64 (7)	2,43 (6)	4,07 D	17,80 D 17,39 D
	1 → 2	7,06 (13)			
	1 → 20	21,87 (6)			
	2 → 20	10,75 (1)			
	2 → 40				
12	1 → 2	3,18 (12)	2,73 (8)	0,81 D	22,80 D 10,60 D
	1 → 20	23,61 (1)			
	2 → 20	9,61 (2)			
	2 → 40	33,40 (1)			
	20 → 40	6,01 (5)			
13	2 → 1	2,16 (2)	5,86 (7)	4,08 H	12,11 D 11,14 D
	2 → 20	7,06 (2)			
	20 → 40	8,45 (1)			
	2 → 40	19,17 (1)			
	1 → 20				
14	2 → 1/5	5,47 (7)	1,61 (2) 2,28 (3) 0,95 (2)	1,93 D 1,30 H 0,21 H	6,77 D 1,72 D 3,85 D
	1 → 1/2	3,35 (5)			
	2 → 1	1,67 (1)			
	1/2 → 1/5	0,53 (2)			
	1 → 1/5				
15	2 → 1/5	6,01 (2)	4,84 (3) 3,50 (1) 5,42 (2) 1,67 (1)	0,5 H 0,59 D 0,25 H 4,84 D	4,34 H 0,75 D
	2 → 1/2	2,64 (2)			
	1/2 → 1/5	3,26 (4)			
	1/5 → 0	4,91 (2)			
	0 → 2	8,10 (2)			
16	2 → 1/5	3,92 (1)	3,10 (1) 2,22 (2) 2,15 (1)	0,41 D 1,03 H	3,20 D 1,12 D
	1/5 → 1/2	1,33 (1)			
	2 → 0	3,61 (1)			
	0 → 1/2				
	1/5 → 0				

Fortsetzung Tabelle 2

Versuch Nr.	Lösungs- wechsel ¹ n x KCl	Potentialänderung ² [mV]			Errechnete Übergänge ³ [mV]
		D [mV]	H [mV]	Mittelwert von D und H [mV]	
17	2 → 1/2	2,83 (6)	5,26 (3)	0,13 D	
	1/2 → 1/5	0,90 (1)	2,60 (2)	1,43 H	
	1/5 → 0	1,36 (1)	13,92 (2)	8,82 H	2,95 D
	0 → 2	5,49 (1)	6,55 (6)	4,83 H	7,07 H
	2 → 1/5	5,96 (1)	2,20 (1)	1,88 D	
	1/2 → 0	6,94 (3)			10,25 H
18	2 → 1/2	8,52 (5)			
	2 → 0	7,10 (7)			
	2 → 1/5	6,98 (3)	5,17 (2)	2,12 D	12,27 D
	1/2 → 1/5	3,75 (1)			
	1/5 → 0				4,98 D
19	2 → 5	5,0 (3)	2,71 (2)	1,92 D	
	5 → 0	7,36 (1)			
	0 → 2	5,66 (1)	3,93 (5)	2,33 H	9,28 H

Tabelle 3. Änderung des Ruhemembranpotentials bei Variation der K^+ -Außenkonzentration.

Lösungswechsel n x KCl	Anzahl der Versuchshunde	Anzahl der Einstiche	Potential- änderung [mV]	± SES [mV]	± SEM [mV]
0 → 1/5	4	81	0,48 H	3,76	1,88
0 → 1/2	2	7	0,25 H	2,69	1,90
1/5 → 1/2	5	15	1,28 H	2,22	0,99
1/5 → 20	1	1	17,5 D	-	-
1/2 → 1	1	7	1,93 H	-	-
1 → 2	5	94	2,19 D	1,73	0,77
1 → 20	3	18	18,87 D	6,75	3,90
1 → 40	1	2	15,14 D	-	-
2 → 0	5	41	3,97 D	3,96	1,77
2 → 1/5	6	33	4,19 D	3,33	1,36
2 → 1/2	3	17	3,08 D	4,72	2,72
2 → 5	5	39	2,10 D	2,09	0,93
2 → 10	5	35	6,75 D	2,48	1,11
2 → 20	9	53	15,69 D	5,93	1,98
2 → 40	6	20	20,73 D	7,01	2,86
5 → 0	1	1	7,36 D	-	-
5 → 10	3	9	4,31 D	0,46	0,37
5 → 20	1	7	7,55 D	-	-
10 → 20	2	29	8,82 D	0,17	0,12
20 → 40	5	48	6,81 D	2,61	1,17

SES = Standardabweichung der Stichproben

SEM = Standardabweichung des Mittelwerts

Tabelle 4. Membranpotential V in Abhängigkeit von der K^+ -Außenkonzentration $[K^+]_o$

$[K^+]_o$ [mMol/l]	$V \pm \text{SEM} (n)$ [mV]	V' [mV]
0,00	$-40,66 \pm 2,36$ (6)	-38,80
0,469	$-41,34 \pm 1,59$ (7)	-39,80
1,173	-42,10 (1)	-40,91
2,345	$-44,03 \pm 1,28$ (7)	-43,38
4,69	$-42,34 \pm 1,36$ (19)	-42,34
11,73	$-40,20 \pm 1,44$ (6)	-39,61
23,45	$-35,89 \pm 0,70$ (3)	-34,87
46,90	$-27,03 \pm 1,54$ (3)	-25,79
93,80	$-20,22 \pm 2,21$ (5)	-17,92

Die Absolutwerte wurden berechnet aus den Übergängen, ausgehend von einem Ruhemembranpotential von $42,34 \pm 1,36$ mV in normaler Krebs-Lösung (268 Einstiche; $n = 19$ Hunde). $V \equiv$ Werte des Membranpotentials in Abb. 10, $V' \equiv$ Um das jeweilige "junction potential" korrigiertes Membranpotential.

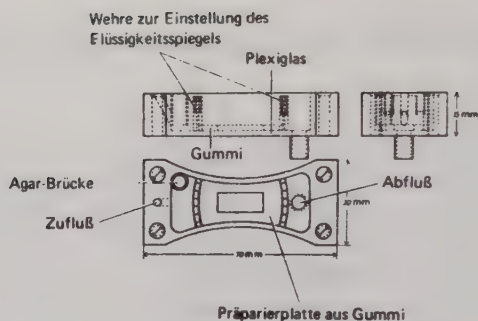


Abb. 1. Meßkammer, dargestellt in Grund-, Auf- und Seitenriß. Die sich in ihrem zentralen Anteil verjüngende Form der Kammer wurde so konstruiert, um bei laminarem Fluß eine hohe Strömungsgeschwindigkeit am Präparat zu erzielen.

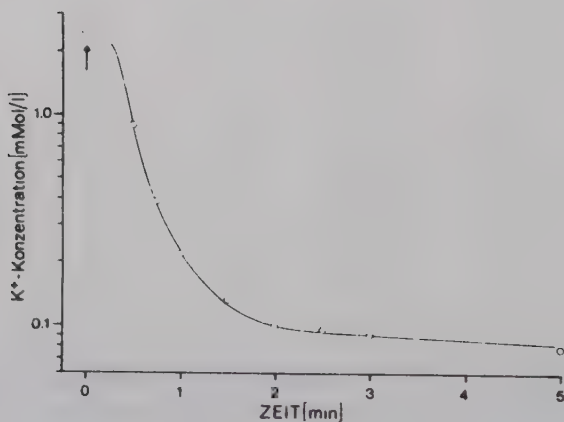


Abb. 2. Zeitliche Änderung der K^+ -Konzentration in der Meßkammer beim Wechsel einer Krebs-Lösung von $[K^+]_0 = 2,35$ auf $[K^+]_0 = 0$ mMol/l. Austauschrate: 8 ml/min.

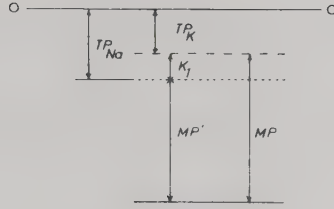


Abb. 3. Korrektur eines gemessenen Membranpotentials MP' auf MP mit Hilfe der gemessenen Verhältniszahlen des TP_{Na} und TP_K (nach KERN, 1966).

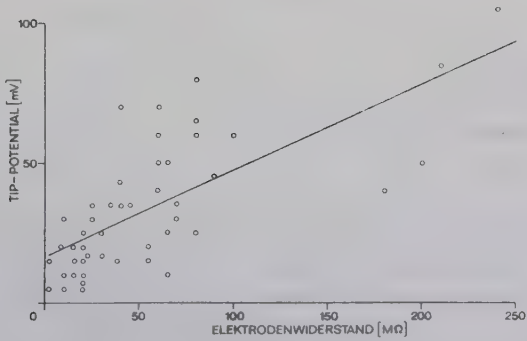


Abb. 4. Beziehung zwischen Elektrodenwiderstand und Tip-Potential.

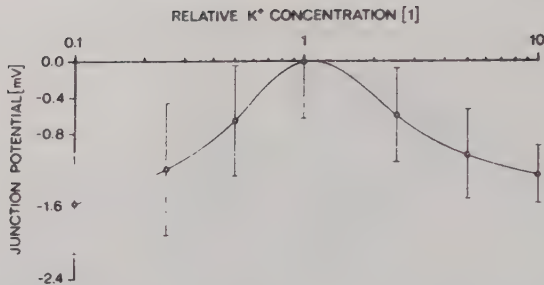


Abb. 5. Abhängigkeit des "junction potential" von der relativen K⁺-Konzentration einer Krebs-Lösung, gemessen zwischen indifferenten Agar-Elektrode und agargefüllter Mikroelektrode in der Kammer nach Abb. 1 ohne Präparat. Die verschiedenen K⁺-Konzentrationen in den Testlösungen wurden auf eine Krebs-Lösung mit normaler K⁺-Außenkonzentration ($[K^+]_0 = 4,69 \text{ mMol/l}$) normiert.

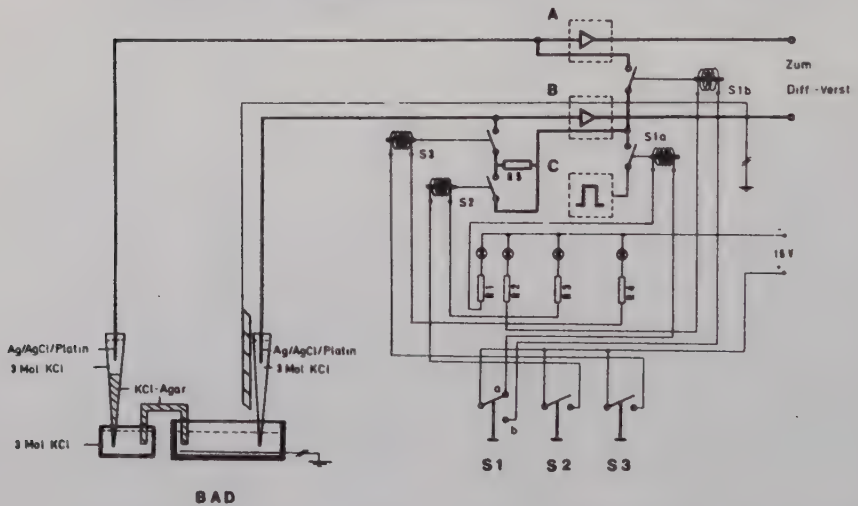


Abb. 6. Prinzipschaltbild der Meßanordnung. A, B Kathodenfolger, $R_{in} > 10^{12} \Omega$; C Impuls-generator; Schalter S3, S1b geöffnet: Ableitstellung; Schalter S3, S1a geschlossen, S2 geöffnet: Widerstandsmessung; Schalter S3, S2, S1b geschlossen: Tip-Potentialmessung; Schalter S3, S2, S1a geschlossen: Impuls-Charakteristik; Widerstände R1, R2, R3, R4: 620 Ω . Die Schaltersteuerung erfolgte durch Relais, um die Leitungswege möglichst kurz zu halten (niedrige Eingangskapazität). Bandbreite der Verstärker: Bei einem Elektrodenwiderstand von 22 M Ω 0-10 kHz; Rauschen der Verstärker bei 22 M Ω Eingang, abgeschirmt und kompensiert: $U_R \sim 800 \mu V_{pp}$. In Eingangsschaltung wird V gemessen.

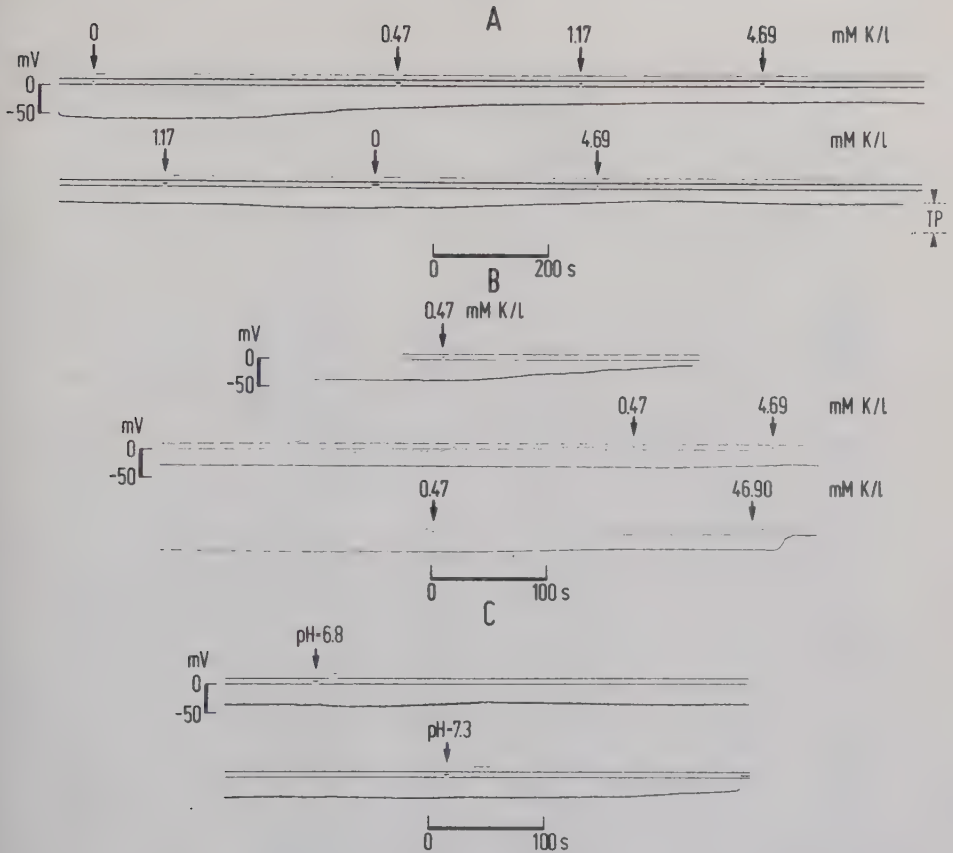


Abb. 7. Die Wirkung verschiedener extracellulärer K^+ -Konzentrationen und des pH-Wertes auf das intracellulär abgeleitete Membranpotential von Carotis- und Cerebralarterien (Originalregistrierungen). Vor dem ersten Lösungswechsel wurde stets in normaler Krebs-Lösung intracellulär abgeleitet ($[K^+]_0 = 4,69 \text{ mMol/l}$; $\text{pH} = 7,3$). Bei genauer Betrachtung der Ableitungen kann man "slow waves" im Membranpotential erkennen. Die Applikation der Testlösungen mit verschiedenen K^+ -Außenkonzentrationen erfolgt jeweils bei den Pfeilen. Die Potentialkalibrierung ist am linken Rand, die Zeit am unteren Rand angetragen. TP = Tip-Potential der Mikroelektrode.

A. Fortlaufende Registrierungen von der Carotisarterie bei Variation der extracellulären K^+ -Konzentration;
 B. Oberer Teil: Wirkung von $0,47 \text{ mMol } K^+/l$ auf das Membranpotential der Basilararterie. Unterer Teil: Fortlaufende Ableitung von der *A. cerebri media* bei Variation der extracellulären K^+ -Konzentration;
 C. Fortlaufende Registrierung des Membranpotentials vom *Circ. arteriosus Willisii* bei pH-Änderungen.

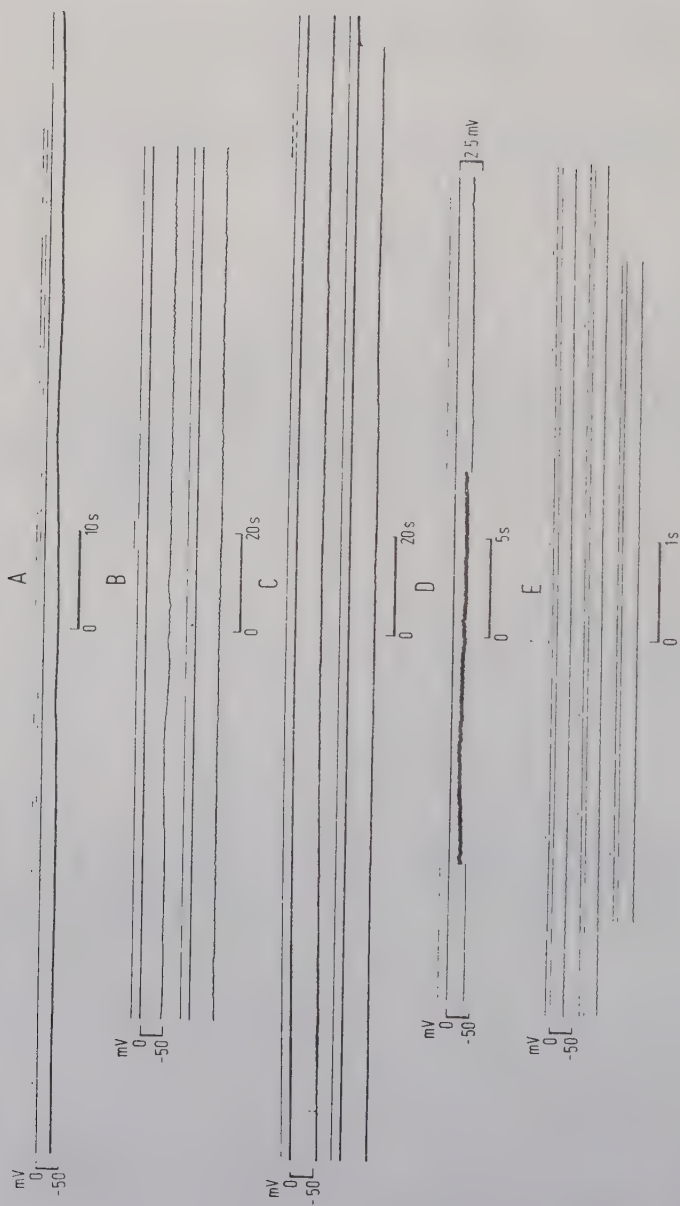


Abb. 8.

Abb. 8. Spontanaktivität des Membranpotentials glatter Muskelzellen aus Carotissegmenten des Hundes. Bei A - D wurde in normaler Krebs-Lösung ($[K^+]_0 = 4,69 \text{ mMol/l}$) intracellulär abgeleitet, bei E in hypokali-scher Krebs-Lösung ($[K^+]_0 = 0,47 \text{ mMol/l}$). Linker Rand Potential-, unterer Rand Zeitkalibrierung. Der Abstand von Markierung zu Markierung im obersten Ableitstrahl einer jeden Registrierung beträgt 1 s.

A: Stehender Einstich bei $V = -33,4 \text{ mV}$; Potentialoscillationen (slow waves) mit einer Frequenz von $\nu = 0,04 \text{ Hz}$ und einer Amplitude von $A = \pm 6 \text{ mV}$.

B: $V = -46,4 \text{ mV}$; $0,04 < \nu_1 < 0,08 \text{ Hz}$, $A_1 = \pm 4,8 \text{ mV}$; $0,6 < \nu_2 < 1,8 \text{ Hz}$, $A_2 = \pm 1,8 \text{ mV}$.

C: $V = -59,5 \text{ mV}$; $0,6 < \nu < 1,8 \text{ Hz}$, $A = \pm 1,8 \text{ mV}$. Beachte zu Beginn der Registrierung eine singuläre Entladung (Spike) mit einer Höhe von $21,4 \text{ mV}$! Am Ende der Ableitung wird der Ausstich aus der Zelle gezeigt; das Potential fällt exakt auf die Nulllinie zurück.

D: $V = -37,1 \text{ mV}$; $0,4 < \nu < 3,6 \text{ Hz}$, $A = \pm 0,3 \text{ mV}$. In der Mitte der Ableitung wurde die Empfindlichkeit (siehe zugehörige Kalibrierung am rechten Rand!) und die Filmgeschwindigkeit geändert, um das "membrane noise" zu verdeutlichen, das dem Netzbrumm von 50 Hz überlagert ist.

E: $V = -29,8 \text{ mV}$; $\nu = 13 \text{ Hz}$, $A = \pm 0,6 \text{ mV}$. Beachte, daß das Membranpotential im Verlauf der Ableitung negativer wird und am Ende $-35,7 \text{ mV}$ beträgt.

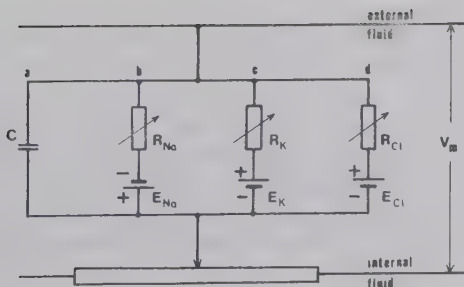


Abb. 9. Membranmodell einer erregbaren Nervenfasers. a) Konstante Kapazität; b) Na^+ -Kanal; c) K^+ -Kanal; d) Cl^- -Kanal (modifiziert nach HUXLEY, 1954, zitiert in: HODGKIN, 1958).

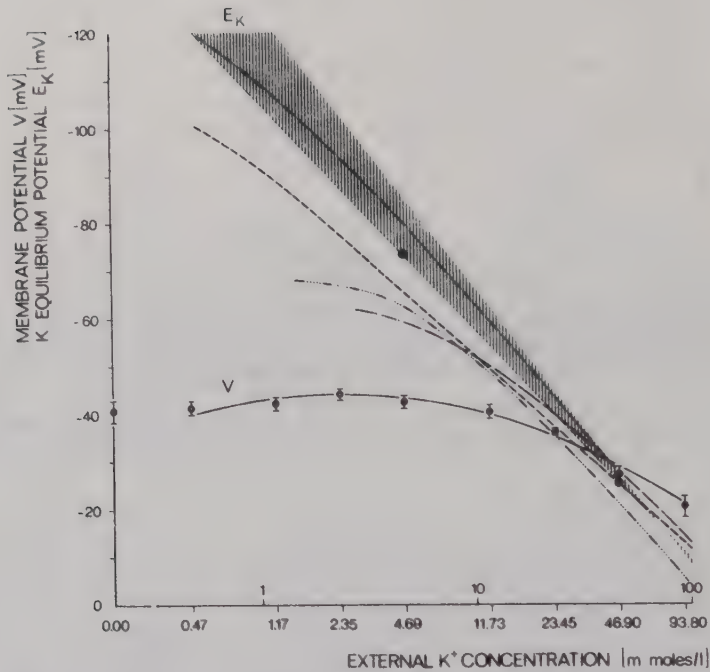


Abb. 10. Membranpotential V (o) und K^+ -Gleichgewichtspotential E_K (•) der glatten Gefäßmuskulatur der Hundecarotis als Funktion der externen K^+ -Konzentration $[K^+]_o$; halblogarithmische Darstellung. $[K^+]_o$ und $[Na^+]_o$ wurden gegenseitig geändert, so daß die Summe stets 155,5 mMol/l blieb. Die strichpunktiierte Linie zeigt den Verlauf des Membranpotentials beim Skelettmuskel (ADRIAN, 1956), die kurzgestrichelte Kurve am Herzmuskel (HAAS et al., 1966), die mehrfach punktierte, strichlierte Kurve am Nerven (HUXLEY und STÄMPFLI, 1951) und die langgestrichelte Kurve an der glatten Muskulatur der *Taenia coli* (CASTEELS und KURIYAMA, 1966). Der schraffierte Bezirk zeigt den Bereich der E_K -Änderungen, oben begrenzt von den theoretisch ermittelten, unten von den experimentell gefundenen Werten.

Meinen herzlichen Dank sage ich Herrn Professor Dr. Günter Siegel, der mir das Thema der vorliegenden Arbeit überließ.

Herr Professor Dr. G. Siegel führte mich in das Gebiet der Elektrophysiologie ein und begleitete meine Arbeit durch stets großzügige praktische und theoretische Unterstützung.

Mein Dank gilt ferner Herrn Dr. O. Bertsche für die Hilfe bei den Operationen und die zahlreichen anregenden Diskussionen. Für diese danke ich ebenfalls Herrn Dr. rer. nat. H. Roedel.

Frau Ch. Fuhrmann danke ich für ihre liebenswerte Hilfsbereitschaft, vor allem in bezug auf die Messungen am Atomabsorptionsspektrometer. Frau Ch. Birkefeld habe ich zu danken, daß ich mit analysereinen Gläsern arbeiten konnte.

Herrn H. Dannenberg aus der mechanischen Werkstatt und Herrn J. Petsch aus der elektronischen Werkstatt bin ich für die bereitwillige und findige Hilfe bei der Lösung mechanischer und elektrischer Probleme zu herzlichem Dank verpflichtet.

Den Mitarbeitern im Tierstall, insbesondere Herrn G. Gebert, sage ich meinen herzlichen Dank dafür, daß sie mir die schwierige Aufgabe im Umgang mit den Tieren erleichterten.

LEBENS LAUF

1942	geboren am 18. September in Salzkotten/Kreis Büren als 3. Kind des im letzten Kriege vermißten Postkraftwagenführers Kaspar Jäger und seiner Ehefrau Mathilde, geb. Lohre
1949 - 1957	Katholische Volksschule (Busdorf) zu Paderborn mit Entlassung aus der 8. Klasse
1957 - 1960	Ausbildung als Jungwerker bei der Deutschen Bundesbahn in Paderborn
6. April 1960	Zeugnis über die Jungwerker-Ausbildung
1960 - 1963	Handwerkslehre als Elektroinstallateur bei der Firma H.W. Nixdorf, Paderborn
21. September 1963	Gesellen-Prüfung
1962 - 1963	Berufsaufbauschule in Abendkursen
1963 - 1965	Berufsaufbauschule in Tageskursen
12. März 1965	Fachschulreifeprüfung (Teil I/4)
1965 - 1967	Besuch des Instituts zur Erlangung der Hochschulreife (Westfalen-Kolleg) in Paderborn
5. Oktober 1967	Zeugnis der Reife (Abitur)
WS 1967/68 - WS 1973/74	Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin
12. September 1968	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
22. September 1970	Ärztliche Vorprüfung
27. Februar 1974	Ärztliche Prüfung an der Freien Universität Berlin

